Lane Medical Library 1902

Aus dem pathologischen Institut zu Greifswald.

Untersuchungen über pathogene Hefe.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

Medizin, Chirurgie und Geburtshülfe,

welche

nebst beigefügten Thesen

mit Zustimmung

der Hohen Medizinischen Fakultät

der Königl. Universität Greifswald

am

25. Juli 1902,

Mittags 1 Uhr

öffentlich verteidigen wird

Wilhelm Franck,

pract. Arzt.

Opponenten:

Herr cand. med. Fritz Schäfer.

Herr cand. med. Johannes Witt.

Greifswald.

Druck von Julius Abel.

1902.

Gedruckt mit Genehmigung der hohen medicinischen Fakultät
der Universität Greifswald.

Prof. Dr. Martin.

Referent: Prof. Dr. Grawitz.

Seinen Eltern

gewidmet in dankbarer Verehrung.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154012_0053

Es ist ein eigentümliches Spiel des Zufalls, dass die Entdeckungen von der Pathogenität der Hefen in demselben Institut gemacht wurden, aus welchem 24 Jahre vorher die Aufsehen erregenden Mitteilungen *Grohes*[1]) über pathogene Schimmelpilze veröffentlicht worden sind. Wie im Jahre 1870 durch die Arbeiten *Grohes* so ist im Jahre 1894 auch durch die Veröffentlichungen *Busses*[2]) ein vollkommen neues Kapitel in die Pathologie eingeführt worden. Die zahlreichen und schnell folgenden Arbeiten aus den verschiedensten Ländern der Erde beweisen mehr als lange Auseinandersetzungen die Bedeutung dieser jungen Entdeckung. Es hat sich gezeigt, dass die Hefen geradezu typische, vorher unbekannte Erkrankungen bei Menschen und Tieren hervorrufen. Diese Erkrankung tritt auf durch die Ansiedlung der Parasiten in verschiedenen Gewebsteilen oder in den verschiedenen Organen und ist charakterisiert durch die Bildung von Knötchen und Knoten, die einen ganz eigenartigen von allen bisher bekannten Gewebsveränderungen verschiedenen Typus darstellen. Diese

1) Berliner Klin. Wochenschrift. 1870 N. 1.

2) *Busse:* Über parasitäre Zelleinschlüsse und ihre Züchtung. Centralblatt f. Bakt., Bd. 16. 1894. — Über Saccharomykosis hominis. Virch. Archiv, Bd. 140. 1895. — Experimentelle Untersuchungen über Saccharomykosis, Virch. Archiv, Bd. 144. 1896. — Die Hefen als Krankheitserreger. Berlin, August Hirschwald. 1897.

Veränderungen, die man mit dem Namen Saccharomycose oder Blastomycose bezeichnet hat, stellen sich dar als eine Anhäufung massenhafter Hefezellen in sehr verschiedenem Grade, vermischt mit entzündlich gewucherten Elementen des Gewebes selbst. So kommen grosse Knoten, ja, wenn man die Grösse der Knoten im Verhältnis zur Grösse des Tieres betrachtet, ungeheuer grosse Knoten bei Mäusen und Ratten vor, die im wesentlichen und fast ausschliesslich aus Hefen bestehen, sodass *Curtis*[3]) geradezu von einer „véritable culture du microorganisme sur le vivant" sprechen kann. Auffällig ist dabei das zuerst von Busse hervorgehobene, vollkommen passive Verhalten des Gewebes. Es hat sich gezeigt, dass in der That auch bei Einlagerung grösserer Herde in Fettgewebe, Lunge, Gehirn etc. jegliche Reaktion von Seiten des Gewebes ausbleiben kann. Es ist das ein Verhalten, das in der That so fremdartig erscheint, dass *Baumgarten* in seinen Jahresberichten bei der Wiedergabe der *Busse*schen Arbeiten mit seinem Zweifel an der Richtigkeit der Untersuchung sicher der Meinung der Mehrzahl der Pathologen Ausdruck gegeben hat. Aber es hat sich hierbei, wie bei so vielen neuen Erscheinungen in der Natur, wiederum der alte Erfahrungssatz bestätigt, dass man die Veränderungen nicht mit vorgefasster Meinung beurteilen darf, sondern jede neue Erscheinung wirklich studieren muss, wenn anders man sie verstehen will. Die Folgezeit hat durch zahlreiche Nachprüfungen und Auffindung neuer, pathogener Hefen mit ähnlichem Verhalten die Richtigkeit der *Busse*schen Anschauung vollkommen bestätigt, und heute wissen wir, dass wir unsere pathologischen Vorstellungen dahin erweitern müssen, dass er zu einer langsamen chronischen Ansiedlung massenhafter pathogen wirkender Mikroorganismen in den verschiedensten auch sehr lebenswichtigen Organen kommen kann, ohne dass diese auch nur im allergeringsten Masse sich

3) Ann. Pasteur. 1896. Contribution à l'étude de la saccharomycose humaine.

dagegen durch Ausbildung einer mehr oder minder starken Entzündung zu wehren brauchen. Allerdings verhält sich das Gewebe keineswegs immer so passiv gegen die Hefen, sondern wir sehen, dass ein und dieselbe Hefeart bei derselben Tierspezies gelegentlich intensive Gewebsentzündungen, ein andermal dagegen grössere Knoten ohne die geringste Gewebsreaktion hervorzubringen vermag. Besonders die von *Sanfelice* viel verwandte Hefe Saccharomyces neoformans zeichnet sich dadurch vor allen anderen aus, dass sie eine recht erhebliche Entzündung des Gewebes hervorzurufen pflegt.

Zahlreiche, gerade in der letzten Zeit erschienene, zusamenfassende Arbeiten kommen zu der Aufstellung eines für Hefen charakteristischen Krankheitsbildes, das unter dem Namen der Saccharomykose oder Blastomykose beschrieben wird, dabei handelt es sich meistens um folgenden Krankheitsverlauf: An der Eingangspforte bildet sich gewöhnlich ein mehr oder minder grosser Knoten, liegt dieser in der Haut oder dem Darm, so kann er zerfallen und nach Ausstossung der Hefen vollkommen ausheilen. Zu gleicher Zeit aber kommt es durch Verschleppung der aufgenommenen Hefen in den entfernteren Organen zur Metastasenbildung. In einer Reihe von Fällen sind hiervon in erster Linie die regionären Lymphdrüsen betroffen, ganz gewöhnlich pflegen aber auch z. B. die Lungen in erheblicher Weise von Hefen durchsetzt zu sein. In vielen Fällen findet sich hier eine so ungeheure „Verhefung" der Lunge, dass das Tier einfach an Erstickung zu Grunde geht, weil Kapillaren und Alveolen in gleicher Weise mit Hefen geradezu vollgepfropft sind. In anderen Fällen dagegen tritt der Tod später entweder in Folge von allgemeinem Marasmus oder wie *Busse* das bei seinen Hefen wahrscheinlich gemacht hat, durch Hirndruck ein, indem nämlich hier im Gehirn die Hefen so massenhaft zur Ansiedlung kommen, dass sie unter Umständen denselben Raum

wie das Gehirn selbst in der Schädelhöhle beanspruchen. Wie erheblich dabei der Druck sein muss, ersehen wir aus Mitteilungen von *Petersen*[4]) und *Exner*, welche berichten, dass der knöcherne Schädel geradezu gesprengt wurde, sodass die Knochen an den Nähten bis zu 1 mm weit auseinander standen.

Ueberall, wo die Hefen auftreten, bilden sie kleinere und grössere Knoten, die makroskopisch vollkommen den Eindruck von Geschwulstknoten und Metastasen bilden. Der Umstand, dass nun die Hefen auch vielfach in Tumoren gefunden werden, der Umstand ferner, dass ein Teil der seit Jahrzehnten im Vordergrunde des Interesses stehenden „Zelleinschlüsse" in bösartigen Geschwülsten unzweifelhaft von Hefen gebildet wird, hat eine grosse Zahl von Forschern sich dem Studium der Pathogenität der Hefe widmen lassen. Aber leider ist bisher ein wirlicher Beweis dafür, dass die Hefen mit der Bildung der Geschwülste in ätiologischem Zusammenhange stehen, nicht erbracht.

Trotzdem sich nun schon die verschiedensten Untersucher, denen *Busse* seine Hefen überlassen hat, mit dem Studium der Pathogenität der Hefen befasst haben, so schienen doch noch einige Punkte der Aufklärung bedürftig, und ich selbst hatte mir deshalb die Aufgabe gestellt, das bisher vorliegende, bekannte Material über die pathogenen Hefen nach mehreren Richtungen hin zu ergänzen. Zunächst prüfte ich daher die Pathogenität der *Busse*'schen und *Cürtis*'schen Hefe für Hühner und Tauben. Die Erfahrungen, die *Sanfelice* mit seinen Impfungen an den Kämmen von Hühnern gemacht hatte, die geradezu monströsen Formen, die die Hefen hier annahmen, legten mir den Gedanken nahe, dass auch vielleicht andere pathogene Hefen gerade bei diesen Tieren ähnliche Reaktionen des Gewebes hervorrufen und ähnliche Veränderungen

---

4) Über Hefepilze und Geschwulstbildung. Aus der Heidelberger chir. Klinik. Beiträge zur klinischen Chirurgie, Bd, 25. Heft 3. 1900.

ihrer eigenen Gestalt annehmen möchten. Der zweite Punkt galt, noch einmal die Länge der Lebensdauer der *Busse*'schen Hefe festzustellen. Drittens glaubte ich, dass die von mir angestellten Fütterungsversuche der Veröffentlichung wert seien, und vieterns endlich schien es angebracht, vergleichende Untersuchungen mit den von den verschiedenen Autoren angegebenen Färbungsverfahren anzustellen.

Tierversuche:

Um mich von der Pathogenität der mir von Herrn Professor *Busse* gütigst zur Verfügung gestellten, doch nunmehr bereits durch mehr als 7 Jahre gezüchteten Hefe zu überzeugen, impfte ich gleichzeitig mit den Hühnern und Tauben auch Mäuse. Die Versuche zeigten, dass die Hefen ihre Bösartigkeit bis zu jenem Tage noch vollkommen bewahrt hatten. Im einzelnen war das Resultat folgendes: Weisse Maus No. 10 wurde am 16. Oktober mit 1 ccm Aufschwemmung Saccharomyces *Busse* intraperitoneal geimpft. Die hierzu verwandte Kultur war am 8. Oktober angelegt. Die Maus starb bereits am 29. desselben Monats, also nach 21 Tagen. Aeusserlich ist ebenso wie am Peritoneum nichts Abnormes sichtbar. Die Lunge ist leider zum grössten Teil von den anderen Mäusen über Nacht aufgefressen. Der zurückgebliebene Teil ist atelektatisch und diffus, reichlich mit Hefen von verschiedener Grössen durchsetzt. Die Milz ist stark durch zerfallene rote Blutkörperchen pigmentiert und zeigt viele glänzende Hefen, die vorwiegend in grösseren Haufen zusammenliegen. Kapseln lassen sich an ihnen leicht nachweisen. Die Nieren zeigen an ihrer Oberfläche stecknadelspitzengrosse, hellgraue Punkte, die ganz aus Hefen zusammengesetzt sind, ausserdem besteht etwas parenchymatöse und interstitielle Nephritis. Zahlreiche Hefen liegen auch in den Harnkanälchen und Glomerulis und zeigen vielfach Kapselbildung. Die Leber zeigt deutliche Acinuszeichnung, starke braune Atrophie und viele Hefen von ziem-

licher Grösse, einzeln und in Gruppen gelegen. Im Herzen und Gehirn sind relativ am wenigsten Hefen sichtbar.

Weisse Maus No. 11 wurde ebenfalls am 16. Oktober mit 1 ccm Aufschwemmung intraperitoneal geimpft. Die verwandten Kulturen stammten auch vom 8. Oktober. Der Tod trat bei ihr am 17. November ein, also nach 32 Tagen.

Bei der Sektion fällt äusserlich nichts Besonderes auf. In der Bauchhöhle dagegen sieht man einen dunkel gefärbten Knoten von Erbsengrösse, der fast ganz aus Hefen besteht, die teilweise in grossen Zellen eingeschlossen sind und Kapseln zeigen, die bei Essigsäurezusatz deutlicher werden. Die Hefen sind im übrigen stark glänzend, und einige unter ihnen zeigen Sprossung. Die Lunge ist teilweise hepatisiert, zeigt zahllose, äusserst glänzende Hefen mit deutlich sichtbaren Kapseln sowohl in den Septen wie in den Alveolen und Kapillaren. Das Herz zeigt einige wenige Hefen mit Kapseln ebenso wie die Leber, wo sie aber mehr in Gruppen angeordnet liegen. Mehr Hefen zeigt wieder die Milz und vor allen Dingen die Nieren, wo sie ebenso wie bei der vorigen Maus schon als submiliare Knötchen imponieren und auch wie dort in den Glomerulis und Harnkanälchen eingekapselt, einzeln und in Haufen gelegen sind, im letzteren Falle unter Zerstörung des Parenchyms. Das Gehirn bietet nur wenige, kleine Hefen.

Auch der Maus No. 12 wurde am 16. Oktober ebenfalls von der am 8. Oktober besäten Platte 1 ccm Aufschwemmung in die Bauchhöhle gespritzt. Sie starb am 18. November, 33 Tage nach der Injektion. Aeusserlich ist nichts sichtbar, ebenso am Peritoneum. Die Oberfläche der Lunge sieht marmoriert aus. Sie selbst ist stellenweise atelektatisch. Auch in ihr finden sich in den Septen und Alveolen zahllose Hefen. An einer Stelle eines Schnittes sah ich sie mit Kapseln umgeben, in Vermehrung begriffen, das Lumen einer Kapillare ausfüllen und stark ausweiten. Die Mediastinaldrüsen sind stark geschwollen und erreichen insgesamt fast die Grösse einer Lun-

genhälfte. Auf einem Schnitte durch dieselben ist fast das ganze Gesichtsfeld von Hefen ausgefüllt, die einen äusserst lebensfähigen Eindruck machen. Das Herz zeigt etwas braune Atrophie, aber nur ganz vereinzelt lichtschwache Hefen ohne Kapselbildung. Noch weniger finden sich im Gehirn und in diesem Falle auch in der Leber. Die Milz dagegen ist total verheft und in den Nieren fallen wieder die kleinen grauen Knötchen auf, die wie in den vorigen Fällen aus Hefen bestehen. Während das Bild in der Rindensubstanz auch sonst nicht von dem der beiden oben genannten Mäuse abweicht, ist man erstaunt über die Unzahl der in der Marksubstanz der rechten Niere gelegenen stark glänzenden Hefen. Zudem ist die rechte Nebenniere cystisch entartet und enthält zahllose, stark lichtbrechende Hefen.

Im Gegensatze hierzu hatten nun die mit derselben Hefe angestellten Impfversuche an Hühnern und Tauben folgendes Ergebnis:

Einem Huhn No. 1 wurde am 7. Oktober $2^1/_2$ ccm einer Aufschwemmung von Saccharomyces *Busse* in die Bauchhöhle und $1^1/_2$ ccm in den Kamm injiziert. Die Hefe stammte von einer am 3. Oktober angelegten Kultur. Nach 24 Tagen, am 31. Oktober, wird das Huhn getötet. An beiden Injektionsstellen ist makroskopisch nichts Abnormes sichtbar. Ebenso ergeben auch die inneren Organe und die mit Abstrichen angelegten Kulturen einen vollkommen negativen Befund.

Huhn No. 2 wurde am 7. Oktober ebenfalls mit $2^1/_2$ ccm Hefe intraperitoneal und mit $1^1/_2$ ccm in den Kamm geimpft, auch diese Hefe war 4 Tage alt. Am 7. November wurde ihm noch einmal 2 ccm in der Bauchgegend subkutan injiziert.

Am 14. XI., also 5 Wochen später, wurde es getötet. An der letzten Injektionsstelle sieht man äusserlich eine gerötete, derb infiltrierte Masse. Ihr entsprechend im Peritoneum einen alten Bluterguss. An beiden Stellen liegen zwar noch Hefen, sie sehen aber schon äusserst blass aus. Die hiervon auf

Malzagar angelegten Kulturen ergaben dann allerdings wieder glänzende und kräftig ausssehende Hefen. In der Lunge des Huhns sieht man solche nur ganz vereinzelt, matt, eben noch sichtbar. In den übrigen Organen ist nichts zu finden. Eine Kapselbildung wurde weder in der Lunge noch an der Impfstelle beobachtet.

Dem Huhn No. 8 wurde am 12. Oktober $2^1/_2$ ccm einer Aufschwemmung von einer 4 Tage alten Saccharomyceskultur (*Busse*) in die Bauchhöhle gespritzt. Ein halbes Jahr später fand man nirgends eine Spur von Hefen.

Genau ebenso verhielt sich ein weiteres Huhn, mit dem in gleicher Weise verfahren wurde.

Weiter habe ich 4 Impfversuche mit Tauben gemacht.

Der ersten von ihnen, No. 3, wurden am 7. Oktober 2 ccm Aufschwemmung einer 6 Tage alten Kultur Saccharomyces *Busse* in die Bauchhöhle injiziert.

Am 22. Oktober wurde sie getötet. An der Injektionsstelle, dem Peritoneum, in der Leber, Niere, Milz, dem Herzen sind keine Hefen mehr zu finden, noch ist sonst hier etwas Auffälliges sichtbar. Die Lungen dagegen erscheinen nur makroskopisch normal, mikroskopisch findet man in den Alveolen einige mittelgrosse und kleine Hefezellen, die aber das Licht sehr wenig brechen und bei Essigsäurezusatz keine Kapselbildung zeigen, also wohl schon nicht mehr sehr lebensfähig sind, die abgeimpften Kulturen wachsen nicht.

Eine weitere junge Taube, No. 4, wurde ebenfalls am 7. Oktober mit 2 ccm einer 6tägigen Hefekultur in die Bauchhöhle geimpft, am 7. November wurde ihr indessen dieselbe Quantität noch einmal eingespritzt, und sie dann schon am 11. November, also vier Tage später, getötet. Aeusserlich ist auch hier nichts sichtbar, aber im subkutanen Bindegewebe finden sich einige lichtschwache Hefen, teils frei, teils in grossen, offenbar neugebildeten Zellen gelegen. Auf Essigsäurezusatz sieht man keine Kapselbildung. Die mit den Hefen

angelegten Kulturen gehen nicht auf. Seltsamer Weise sieht man auch in diesem Falle in den übrigen Organen nichts.

Taube No. 9. Ihr werden zum ersten Mal am 12. Oktober $2^1/_2$ ccm, dann zum zweiten Mal am 7. November 2 ccm einer Kochsalzlösung mit 4 resp. 5 Tage alten Hefen subkutan injiziert. Bei ihrer Tötung am 25. März, 5 Monate später, ist sie vollständig frei von Hefen.

Taube No. 14 wurde am 21. Oktober subkutan geimpft. Die hierzu verwandte Kultur stammte vom 18. Oktober. Die Injektionsmenge betrug 2 ccm. Nach 3 Monaten, am 19. Januar, wurde sie getötet. Die Sektion ergab einen vollständig negativen Befund.

Die Untersuchungen mit Hühnern und Tauben ergaben also, dass die Hefen sich zunächst einige Tage lang im Körper lebend erhalten, dass aber alle diejenigen Veränderungen ausbleiben, durch die man sonst im Tierkörper die Erhaltung des Lebens der Hefen feststellen kann, so fällt vor allen Dingen das Ausbleiben der Kapselbildung auf, die doch bisher überall dort, wo sich die Hefe als pathogen erwies, festgestellt wurde. Die Hefen selbst zeigten entschieden ein Abblassen, sodass man schon bei der Betrachtung an frischen Präparaten sofort den Eindruck empfing, dass die in den Tierkörper eingeführten Hefen im Absterben begriffen seien. In einem Falle gingen allerdings noch am 7. Tage die von einer Injektionsstelle angelegten Kulturen auf. Bei einzelnen Tieren wurde absichtlich mit der Tötung sehr lange gewartet auf Grund der Erfahrungen, die z. B. an Ratten und Meerschweinchen gemacht sind. Da diese von Herrn Professor *Busse* nur summarisch berichtet, andererseits doch äusserst interessant sind, lasse ich dieselben mit gütiger Erlaubnis des Autors hier kurz folgen:

Es wurden weisse und bunte Ratten mit Schwemmkultur von Hefen in die Bauchhöhle geimpft. Von 4 geimpften Tieren starb eins schon am nächsten Tage, das zweite im 5., das dritte im 6. und das vierte im 10. Monat. Der Tod bei der

ersten Ratte ist infolge einer bei der Einspritzung hervorgerufenen Verletzung des Darmes eingetreten. Die anderen Tiere waren bis wenige Tage vor dem Exitus wohl und munter, zwei von ihnen haben in der Zwischenzeit einmal, die letzte sogar zweimal geboren. Sie haben dann ihre Jungen gesäugt und sind, als die Jungen mehrere Wochen alt waren, allmählich mehr und mehr abgemagert, sodass anfangs angenommen wurde, sie würden durch das Säugen der schon ziemlich grossen Jungen so erheblich geschwächt. Infolgedessen wurden die Mütter isoliert, erholten sich aber auch jetzt nicht, sassen vielmehr still in einer Ecke, reagierten auf Geräusche und Berührung nur äusserst wenig und langsam, und schliesslich gingen sie sogar ein. Bei der Sektion fand sich nun in der Bauchhöhle nichts Pathologisches. Die Bauchwand war intakt, das Fettgewebe war nicht vermehrt und erwies sich auch bei mikroskopischer Betrachtung frei von Hefeinfiltration. Nur einige Darmschlingen boten einen abweichenden Befund insofern dar, als sich hier auf der Oberfläche kleine Rauhigkeiten fanden, wodurch das glatte spiegelnde Aussehen der Serosa verloren ging. Die kleinen Knötchen enthielten viele, zum grössten Teile abgestorbene Hefen. Die Lungen waren sehr blutreich und von mässig vielen Hefen durchsetzt. Bei der Untersuchung des gehärteten Präparates sah man die Alveolarsepten vielfach verdickt, das Lumen demgemäss erheblich verkleinert und teilweise mit Alveolepithelien erfüllt, daneben aber fanden sich viele kleinste Knötchen von lymphoiden und grösseren epitheloiden Zellen, zwischen denen spärliche Hefen lagen. Die auffallendsten Veränderungen fanden sich nun aber im Gehirn. Auf der rechten Hemisphäre der nach etwas mehr als 4 Monaten vertorbenen Ratte sowie an ihrer Basis bemerkte man eine graue, glasig aussehende, weiche Substanz. Ein schnell angefertigtes Präparat bestätigte die Vermutung, dass es sich hierbei um grössere Saccharomycoseherde handeln möchte. Es zeigte sich weiter, dass eine sehr starke Asymmetrie

der beiden Grosshirnhälften bestand, die besonders deutlich auf den Durchschnitten hervortrat, die nach Härtung in Formol durch dasselbe gelegt wurden. Die rechte Hälfte ist fast doppelt so gross wie die linke, die genauen Breitenmasse sind 8 : 5 mm. Diese enorme Asymmetrie kommt durch eine diffuse Infiltration des rechten Grosshirns mit Hefen zustande, die an der Konvexität und Basis auch grössere Knoten bilden. Bei der mikroskopischen Untersuchung ist an der Bildung dieser Knoten das Gewebe nur in geringem Masse beteiligt. Man findet etwas Kernvermehrung am Rande der Herde und Blutgefässe und Bindegewebsstränge im Innern derselben, die Hauptmasse bilden Blastomyceten und zwar meistens grosse Formen.

Noch auffallendere Präparate liefert das Gehirn der zweiten Ratte, die im 6. Monat nach der Impfung verendete. Hier fanden sich in der Pia mater ähnlich glasig aussehende Stellen und nach vorgenommener Härtung ein grosser Herd, der fast die ganze Grosshirnhälfte einnimmt. Das ganze Gehirn ist 15 mm breit, der grosse kuglige Herd hat einen grössten Durchmesser von 7 mm. Daneben liegt dann noch ein kleiner, der bis 2 mm breit ist. Die Saccharomykoseherde zeichnen sich durch eine blendend weisse Farbe vor der graugelben Gehirnsubstanz aus. Im Kleinhirn sieht man ebenfalls sechs kleinere, weisse Mykoseherde von gleicher Struktur wie in den anderen Stellen.

An diesen Sektionsbefund knüpft Prof. Busse dann die richtige Bemerkung: „Es kann kein Zweifel darüber bestehen, dass diese Anhäufung der Sprosspilze eine ganz mächtige Raumbeengung für das Gehirn herbeigeführt hat, und dass das Tier wohl im wesentlichen infolge von Hirndruck gestorben ist. Damit deckt sich auch das Krankheitsbild. Die weiteren treffenden Schlüsse aus diesen Versuchen möchte ich in dieser Arbeit nicht erwähnen, da sie ja, wenn auch nur ganz kurz gefasst, im Handbuch der pathogenen Mikroorganismen ange-

geben sind, und es mir hier nur darauf ankommt, nachzuweisen und mit Beispielen zu belegen, dass eben Hefen lange Zeit keine Erscheinungen machen können und dann später bei einer disponierenden Gelegenheit wieder ihre pathogene Wirkung entfalten, wie man dies z. B. auch bei der Tuberkulose täglich beobachten kann.

Ein sehr gutes Beispiel namentlich dafür, dass Saccharomyces Busse auch auf ihm wenig zusagenden Nährboden lange Zeit lebensfähig bleibt, sind folgende, ebenfalls bisher nicht veröffentlichte Aufzeichnungen des Herrn Prof. Busse. Die Meerschweinchen sind im Allgemeinen recht wenig für Saccharomyces Busse empfänglich. So waren z. B. die Resultate der früher von Busse vorgenommenen Impfungen unter die Haut, in den Bauch, in die Brustdrüse oder den Hoden bei diesen Tieren stets negativ ausgefallen. Auch durch Wochen fortgesetzte Einreibungen in die durch übermässiges Rasieren vielfach verletzte Haut führten keine Erkrankung des Tieres herbei.

Im Juni 1898 wurden nun Meerschweinchen in der Weise geimpft, dass ihnen wenige Tropfen einer Aufschwemmung in den Glaskörper des Auges injiziert wurden. Um das Auge zu entspannen, wurde gleichzeitig an der entgegengesetzten Seite des Bulbus eine Gegenöffnung gemacht, und einige Tropfen Glaskörper herausgelassen. Zur Kontrolle wurde dann noch in das andere Auge eine gleiche Menge steriler Bouillon eingespritzt. Im Verlaufe der nächsten Monate zeigte der Augenhintergrund im ophthalmoskopischen Bilde kleine, wie Wolken aussehende Trübungen. Die Tiere waren aber sonst wohl und munter, zeigten keine Erkrankungssymptome, sodass es schien, als ob auch diese Versuche resultatlos verlaufen wären. Nach Verlauf von 10 Monaten wurde nun eins von ihnen getötet. Während die inneren Organe nichts zeigten, was mit den injizierten Hefen in Zusammenhang gebracht werden konnte, war in dem infizierten Auge die der Netzhaut auf-

liegende Schicht des Glaskörpers in ein graues, weitmaschiges, fibröses Gewebe umgewandelt, und fanden sich in demselben bei mikroskopischer Untersuchung sehr zahlreiche zum Teil eingekapselte, zum Teil nackte Hefen. Einige entbehrten zum grössten Teil des eigentümlichen Glanzes, der die Saccharomyceten sonst auszeichnet, es handelte sich offenbar um abgestorbene Parasiten. Andere, und zwar die Mehrzahl, zeigten noch vollkommen das starke Lichtbrechungsvermögen, das wir sonst an ihnen gewohnt sind. Es kann somit kein Zweifel bestehen, dass diese noch leben, was dann auch die angelegten Kulturen bewiesen.

Auf den zweiten Teil der mir gestellten Aufgabe, die Länge der Lebensdauer der *Busse*schen Hefen nachzuweisen, brauche ich wohl nicht noch einmal allzu genau einzugehen. Ich will daher nur ganz kurz erwähnen, dass die Hefekulturen, die ich im Oktober 1901 zu den verschiedenen Versuchen, also auch zu den doch vollständig positiv ausgefallenen, an Mäusen benutzte von alten, aus dem August des Jahres 1894 stammenden Kulturen entnommen wurden, die in der Zwischenzeit schon vollkommen eingetrocknet waren, und somit die denkbar ungünstigsten Bedingungen für Erhaltung ihrer Pathogenität durchmachen mussten. Hiermit ist bewiesen, dass nicht nur die Lebensdauer, sondern auch die pathogenen Eigenschaften während voller 7 Jahre dieselben geblieben sind.

Hierbei verdient erwähnt zu werden, dass der Virulenzgrad der Busse'schen Hefen Veränderungen erfahren kann. *Sternberg* teilt in den *Zieglers*chen Beiträgen[5]) in dem Artikel „Experimentelle Untersuchungen über pathogene Hefen" Impfungen mit, die er an Meerschweinchen vorgenommen hat, und die ein von den *Busse*schen Versuchen durchaus abweichendes Resultat ergaben. Während *Busse* fand, dass seine Hefen für Meerschweinchen nur wenig pathogen seien, gingen die von

5) *Zieglers* Beiträge, Bd. 32. 1902.

Sternberg mit demselben Stamme geimpften Meerschweinchen nach einigen Monaten ein, zeigten Hefen in den Lungen, der Milz und den Blutgefässen, ausserdem bei einem intraperitoneal infizierten Meerschweinchen zahlreiche aus Hefen bestehende Knötchen im Mesenterium und Netz und bis zu pflaumenkerngrosse Tumoren an Stelle der Lymphdrüsen in den Leistenbeugen, die bei mikroskopischer Betrachtung zum Teil aus Lymphdrüsen gebildet wurden, die zahlreiche Hefen eingeschlossen hatten, zum Teil nur aus Hefen bestanden. Diese Tumoren machen in *Sternbergs* Versuchen durchaus keine Ausnahme, denn auch das zweite Meerschweinchen zeigte in der Inguinalgegend einen nussgrossen, in der Achselhöhle einen etwas kleineren, eiförmigen harten Tumor, die beide zum grössten Teile aus Hefen bestanden. Sternberg fügt bei diesem zweiten Fall dann noch ausdrücklich hinzu, dass die Hefen sehr gross waren, eine stark lichtbrechende, doppelt konturierte Kapsel aufwiesen, und dass aus ihnen sehr reichlich Hefekolonien wuchsen. Sie waren also ohne Zweifel vollkommen lebensfähig und äusserst pathogen. Vielleicht würde der Unterschied bei den Resultaten beider Autoren so zu erklären sein, dass durch eine verschiedene Behandlung, Verwendung verschiedener Nährböden etc. sich die Virulenz der Hefen etwas geändert hat.

Vergleichsweise habe ich dann bei meinen Versuchen mit Hühnern und Tauben *Curtis* Hefe herangezogen. Die einzelnen Daten sind folgende:

Einem Hahn Nr. 19 wurde am 16. Januar $2^1/_2$ ccm 4 Tage alter Hefe subkutan, und, da das Befinden des Tieres stets ein gutes und äusserlich nichts sichtbar war, am 25. März noch einmal sogar 8 ccm einer ebenfalls 4 Tage alten Hefekultur teils subkutan teils intraperitoneal zugeführt. Trotzdem fiel die am 21. Juli also nach $^1/_2$ Jahre ausgeführte Sektion negativ aus.

Ebenso resultatlos verlief die Sektion bei dem Huhn No. 20, dem am 16. Januar $2^1/_2$ ccm Aufschwemmung einer 4tägigen Kultur subkutan und wie dem Hahn am 25. März

8 ccm ebenso alter Hefe intraperitoneal und subkutan injiziert war, und das ebenfalls am 21. Juli, $^1/_2$ Jahr später, geschlachtet wurde.

Die Taube No. 18 wurde am 12. Januar mit $1^1/_2$ ccm Aufschwemmung einer 4 Tage alten Kultur intraperitoneal und mit derselben Menge subkutan geimpft. Am 30. Januar wurde sie geschlachtet. Aeusserlich ist nichts sichtbar, in der Bauchhöhle liegen allerdings lange Stränge von Blutgerinnsel, aber Hefen sind in ihm nicht zu finden, und ist dies somit nur ein Nebenbefund, zumal die Taube im übrigen nichts Pathologisches bietet.

Die drei Versuche entsprechen vollständig den Erfahrungen, die ich mit der *Busse*'schen Hefe an Hühnern und Tauben machte, d. h. diese Hefen werden ebenfalls von diesen Tieren allmählich unschädlich gemacht und aus dem Körper eliminiert.

Fütterungsversuche von weissen Mäusen mit Hefen:

Weisse Maus No. 5 wurde am 11. Oktober ff. mit Hefekulturen (Saccharomyces *Busse*) gefüttert, die am 8. Oktober auf Kartoffeln angelegt und unter Brütofentemperatur gewachsen waren. Der Tod trat am folgenden Tage, dem 12. Oktober ein, nachdem die Maus sich schon einige Zeit vorher, häufig zitternd, zusammenkauerte.

Die Sektion ergiebt einen ad maximum ausgedehnten Magen mit Bestandteilen von Kartoffeln und zahllosen Hefen als Inhalt. Der Darm ist teils stark kontrahiert, teils durch Hefemassen weit dilatiert. Die Lymphdrüsen in der Bauchhöhle sind gerötet und geschwollen, erweisen sich aber frei von Hefen. Im übrigen ergeben die Organe einen vollkommen negativen Befund.

Weisse Maus No. 6 wurde vom 11. Oktober an ebenfalls mit Hefen auf Kartoffeln gefüttert und, da mir einmal die

Hefekulturen auf Kartoffeln ausgingen, wurde sie vom 17. Oktober an durch mit Hefen besäte Zuckerrüben ernährt. Der Tod trat am 29. Oktober, also nach 18 Tagen, ein.

Sektion: Das Preitoneum ist überall glatt und glänzend, im allgemeinen durchscheinend, an einigen Stellen schwarz pigmentiert, Hefen sind jedoch an diesen Stellen nicht sichtbar. Der Darm ist nur teilweise gefüllt, sein Inhalt aber stark mit äusserst kräftigen Hefen durchsetzt. Die hiervon auf Malzagar angelegten Kulturen gedeihen üppig, sind also vollkommen lebensfähig; die einzelnen Hefen bleiben indessen auffallend klein. Der Magen ist ziemlich stark durch eine bedeutende Menge grosser, stark glänzender Hefen ausgedehnt. Die Organe selbst sind ebenso wie Herz, Lunge, Niere, Milz und Gehirn frei von Hefen oder sichtbaren Abnormitäten.

Weisse Maus No. 7 ist ebenso wie No. 6 behandelt und lebte 18 Tage. Sie zeigte nicht die dunklen Pigmentationen des Netzes. Der Darm ist bei ihr wie bei No. 6 an einzelnen Stellen ohne Inhalt und kontrahiert an anderen durch Zuckerrübenmassen und Hefen erweitert. Der Magen entspricht ebenfalls den bei der vorigen Maus angegebenen Verhältnissen.

Von den beiden eben angeführten Mäusen untersuchte ich am 26. Oktober den Fäces. Es fanden sich in ihm massenhafte äusserst kräftig aussehende Hefen, eine Kapselbildung konnte ich aber selbst bei Essigsäurezesatz nicht sehen. Die auf Malzagar angelegten Kulturen gediehen gut.

Weisse Maus No. 15 wurde am 30. Oktober ff. mit Hefen auf Zuckerrüben gefüttert, gestorben nach Ablauf von 4 Tagen. Der Magen ist prall mit Zuckerrübenmassen und Hefen gefüllt, weniger der Darm. Alles übrige ist ohne Befund.

Weisse Maus No. 16 wurde behandelt wie No. 15, gestorben 4. XI. 01, lebte somit 5 Tage und bietet ausser zahlreichen Bandwürmern als Nebenbefund dasselbe Bild wie 15.

Weisse Maus No. 17, ebenfalls vom 30. Oktober an wie die beiden eben genannten gefüttert. Bei dem 5 Tage später er-

folgten Tode zeigt sie dasselbe Aussehen wie die beiden zuletzt genannten, nur bemerkt man in der Darmwand ausserdem noch zahlreiche kleine, flohstichartige Blutungen.

Aus meinen Fütterungsversuchen geht hervor, dass die Tiere im Verlauf derselben, zum Teil schon nach ganz kurzer Zeit (2 Tage) zum Teil längerer Einwirkung (bis 18 Tage) sämtlich gestorben sind. Eine lokale Erkrankung hat sich, abgesehen von einzelnen Blutungen im Darm, nicht gefunden, und auch sonst hat sich nichts nachweisen lassen, was dafür spricht, dass die Hefen von der Darmschleimhaut aus als solche resorbiert werden. Es hat sich ferner gezeigt, dass die Hefen den Darmtraktus passieren, ohne abgetötet zu werden. Ich verweise hier auf Untersuchungen von *Neumayer*[6]), die ergeben hatten, dass auch nicht pathogene Hefen bei Mensch und Tier den Darmtraktus passieren können. *Neumayer* fasst die Resultate seiner Versuche folgendermassen zusammen:

„1. Sämtliche Hefen sind sehr resistent gegen alle Verdauungssäfte und können den ganzen Verdauungskanal des Menschen oder der Tiere passieren, ohne abgetötet zu werden oder ihr Gährvermögen zu verlieren.

2. Sämtliche Hefearten können in grosser Menge oder ohne jeden Schaden genossen werden, wenn dabei jede Zufuhr einer vergährbaren Substanz vermieden wird.

3. Wird mit einer Hefeart, welche ein nennenswertes Gährvermögen besitzt, eine vergährbare Substanz eingeführt, so ist immer eine Schädigung des Organismus (Magen- Darmkatarrh) zu erwarten.

4. Das schädigende Element sind weder die Hefezellen noch ihre Stoffwechselprodukte, sondern abnorme Gährprodukte, deren Bildung durch die hohe Temperatur des Körpers

6) Archiv f. Hygiene. 1891. Untersuchungen über die verschiedenen Hefearten, welche bei der Bereitung weingeistiger Getränke vorkommen, auf den tierischen und menschlichen Körper.

veranlasst wird, und die sämtlichen Hefearten, sowohl den Kulturhefen als auch den wilden Hefenarten zukommt.

5. Verläuft die Gährung bei minderer Temperatur, so vermag keine Hefeart diese schädlichen Produkte zu bilden oder wenigstens nicht in solcher Menge, dass eine Schädigung des Organismus wahrgenommen werden könnte."

Es liegen ferner Untersuchungen von *Casagrandi* vor, die er mit einer roten Hefe, dem Saccharomyces ruber, angestellt hat. *Casagrandi*[7]) findet, dass die Hefen den Tierkörper lebend passieren, dass sie mit Milch genossen erhebliche Katarrhe hervorrufen, dass ferner Milch, die mit Saccharomyces ruber bedeckt und nach *Tyndall* sterilisiert worden war, ebenfalls diarhoeische Erkrankungen im Gefolge hatte, dass im Gegensatz dazu Bouillon, mit Saccharomyces ruber beschickt und nach *Tyndall* sterilisiert, ohne Schaden genossen werden kann. *Casagrandi* folgert aus diesen Versuchen, dass nicht die Hefen selbst, sondern Stoffe wie sie die vergährbaren Substanzen erzeugen, krankmachend wirken. Es befindet sich also *Casagrandi* auf einem ähnlichen Standpunkte wie *Neumayer*.

In neuester Zeit hat *Buschke*[8]) Fütterungsversuche in grossem Massstabe wiederholt und zwar mit pathogenen Hefen. Er verfuhr dabei in der Form, dass er Bouillonkulturen der Hefen mit Kleie verrührte und diesen Brei den Tieren zu fressen gab. „Von 80 so behandelten Meerschweinchen erkrankte ein einziges mit einer Blastomykose, welche sich von der Oberlippe aus zur Haut fortpflanzte und das Tier unter Metastasen tötete. Es starben ausserdem noch 10 Tiere im Verlauf der Fütterungsperiode und der nächsten Zeit. Bei diesen liessen sich Veränderungen ebenso wenig wie eine Todesursache feststellen. *Buschke* hat dann die Versuche in der Weise modi-

7) Centralblatt f. Bakteriologie, Bd. 24. 1898. Über das Vorkommen von Blastomyceten in dem Darmkanal gesunder und mit Diarrhoe behafteter Kinder.

8) Bibliotheca medica. 1902. Heft 10.

fiziert, dass er diesem hefeartigen Brei zerriebene Glassplitter beimischte, in der ausgesprochenen Absicht, durch Verletzung der Darmschleimhaut den Hefen gewissermassen Eingangspforten zu verschaffen. In der That gelang es von 90 Tieren bei zwei Meerschweinchen, eine vom Darm ausgehende Blastomykose hervorzurufen. Es zeigt sich also ein gewisser Unterschied bei *Buschke's* und meinen Fütterungsversuchen in der Art, dass die von mir gefütterten Tiere sämtlich starben, während bei *Buschke*'s Meerschweinchen von der ersten Versuchsreihe nur 12,5% verendeten. Der Unterschied erklärt sich wohl leicht aus der Verschiedenheit der verwandten Versuchstiere sowohl, als der Hefen und vor allen Dingen aus dem Umstande, dass ich den Tieren die Hefen in viel grösseren Mengen und mit ihnen zugleich die Kartoffeln, auf denen sie gewachsen waren, beibrachte. Es ist in hohem Masse wahrscheinlich, dass ich mit den Kartoffeln ihnen vergährbare oder vergohrene Substanzen im Sinne von *Neumayer* und *Casagrandi* beigebracht habe, und diese in der Kartoffel enthaltenen Produkte giftig auf die Tiere wirkten.

Ich möchte noch einen Augenblick bei den *Buschke*'schen Fütterungen der zweiten Versuchsreihe verweilen. Es hat sich hier gezeigt, dass die verletzte Darmschleimhaut allerdings das Eindringen der Hefen in den Tierkörper und die Entwickelung richtiger Blastomykosen gestattet. Auch die Entwickelung der Blastomykose an der Oberlippe des Meerschweinchens aus der ersten Versuchsreihe muss wohl zweifellos auf das Eindringen der Hefen in eine vorher bestehende Wunde zurückgeführt werden. Diese Versuche nun können meiner Ansicht nach vielleicht etwas beitragen zur Aufklärung eines bisher noch dunkeln Falles von *Roncali*[9]). *Roncali* fand bei einem Adeno-

9) Centralblatt für Bakteriologie. 1898. Bd. 24. Klinische Beobachtungen und histologische und mikrobiotische Untersuchungen über einen Fall von primärem Adenocarcinom (Papilloma infectans) des Colon transversum und descendens mit sekundärem Übergang auf das grosse Netz und das Mesenterium.

carcinom des colon transversum in einem Tumor und seinen Metastasen massenhaft Hefen und sieht in ihnen die Ursache der ganzen Geschwulstbildung. Nach den *Buschke*'schen Versuchen erscheint die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, sondern im Gegenteil der Gedankengang ist sehr naheliegend, dass in einen primären geschwürig zerfallenen Krebs des Darmes Hefen eingedrungen sind, die sich im Lumen des Darmes gefunden haben. Es würde dann dieser Fall sich genau so verhalten, wie die von *Busse* und anderen untersuchten Hautkrebse. *Busse, Bonome, Maffucci* und *Sirleo* haben übereinstimmend konstatiert, dass in exulcerierten Carcinomen Hefen mit grosser Regelmässigkeit und zwar nicht nur in dem primären Tumor, sondern auch in den Metastasen anzutreffen sind, während in den nicht zerfallenen Geschwülsten Hefen viel seltener gefunden werden können.

Im letzten Teile meiner Arbeit möchte ich die Resultate meiner Untersuchungen über die Brauchbarkeit der von den verschiedenen Autoren angegebenen Färbungsmethoden anführen. Ich habe zu meinen Untersuchungen verwandt:

1. Einfache Färbungen mit Hämatoxylin, Carmin, Saffranin, Fuchsin und anderen Anilinfarbstoffen, eventuell mit Zuhülfenahme einer der gebräuchlichsten Gegenfärbungen: Eosin, Pikrin, Pikrin und Säurefuchsin (*van Gieson*).

2. Habe ich dann auch Schnitte nach *Gram* und nach der Fibrinfärbung von *Weigert* behandelt und zwar mit und ohne Gegenfärbung der Kerne mit Carmin oder Bismarckbraun.

3. Weiter habe ich die von *Busse* angegebenen Methoden gebraucht, also:

I.

Hämateinlösung 15 Minuten.

Abspülen in Brunnenwasser 5 Min.

Dünne Karbolfuchsinlösung (*Ziehl*'sche Lösung einmal zu 20 Teilen dest. Wasser) $^1/_2$—24 Stunden.

Entfärben in Alkohol, wenige Sekunden bis einige Minuten.

Absoluter Alkohol.

Hylol, Kanadabalsam.

II.

Hämateinlösung 15 Min.

Auswaschen in Wasser 5 Min.

Wässerige Bismarckbraunlösung 5 Min.

Entfärben in Alkohol.

Destilliertes Wasser.

Einlegen in Sirup. simpl.

4. Ich habe ferner Versuche mit der *Cürtis*'schen und endlich auch mit der von *Sanfelice* angegebenen Methode ausgeführt.

Bezüglich der einfachen Färbungen mit Haematoxylin und Carmin kann ich die Angaben der früheren Autoren, insbesondere von *Busse* nur bestätigen, sie sind zur Darstellung von Hefen ganz und gar ungeeignet, denn entweder färben sich die Hefen überhaupt nicht, oder aber bei Hämatoxylin (bezüglich Hämatein) nur mit Auswahl. Die gewöhnlichen kernfärbenden Anilinfarben wie Saffranin, Fuchsin, Methylenblau, Gentianaviolett etc. eignen sich mit und ohne Gegenfärbung von Pikrin bezüglich Eosin zur Darstellung ebenfalls nur in geringem Masse insofern, als sich bei den meisten dieser Farben die Hefen genau so wie die Kerne färben und daher also besonders in Schnitten, in denen nicht grosse Formen vorliegen, dem Untersucher vielfach garnicht als Parasiten auffallen werden. Bei der Saffraninfärbung zeigen wenigstens die grösseren Formen der Hefen gegenüber dem leuchtenden Rot der Kerne einen leicht gelblich-bräunlichen Ton. Bei der Anwendung sowohl der *Weigert*'schen Fibrinfärbung wie auch der *Gram*schen Methode lassen sich unzweifelhaft eine ganze Reihe von Hefen in schöner Weise darstellen, aber es ist zu bemerken, dass

bei beiden keineswegs alle Hefen gleichmässig gefärbt werden, vielmehr sind es auch hier vorzugsweise nur die grossen und mit breiter Kapsel versehenen Formen, die den blauen Farbstoff zurückhalten, währen die Mehrzahl der kleinen und in Degeneration begriffenen unter ihnen den Farbstoff früher abgiebt als die Gewebskerne. Ich kann in dieser Beziehung also *Sternberg* nicht beipflichten, wenn er sagt, „dass die Hefen bei Färbung nach *Gram* sich fast immer in schönster Weise darstellen lassen.“ Nach meinen Untersuchungen ist diese Färbungsmethode auch nur für einen Teil der im Gewebe vorhandenen Hefen mit Erfolg anzuwenden.

Sehr viel bessere Ergebnisse haben mir die von *Busse* angegebenen Verfahren geliefert, allerdings bedarf es zu einer exakten Darstellung der Hefen erst einer gewissen Uebung, hat man aber einmal den Grad der Entfärbung ausprobiert, so liefert die Hämatein-Fuchsin-Methode wirklich ausgezeichnete Resultate. Es sei namentlich hervorgehoben, dass sich hierbei dann auch die grosse Masse der kleinen und in Degeneration begriffenen Formen prachtvoll rot färben, und man dann hierbei ein sehr viel richtigeres Urteil über die Menge der in den erkrankten Geweben vorhandenen Hefen erhält als bei Anwendung der *Gram*'schen und *Weigert*'schen Färbung. Es sei aber ausdrücklich auch hier hervorgehoben, dass auch bei dieser Art, wie *Busse* ebenfalls in seinen verschiedenen Arbeiten immer hervorhebt, lange nicht alle Hefen gefärbt werden, sondern dass man ein wirklich richtiges Urteil darüber, in welcher ungeheuren Menge vielfach die Hefen im Gewebe vorhanden sind, nur durch Zusatz von Natronlauge zu frischen oder in Alkohol gehärteten Gewebsschnitten erhält. Die besten Ergebnisse liefert *Busse*'s Methode, wenn die Gewebe einfach in Alkohol fixiert und gehärtet werden, sehr viel weniger brauchbar sind die Stücke, wenn dies mit Formalin geschehen ist. Zwar färben sich auch hierbei die Hefen u. z. in grosser Zahl, aber leider behalten nach vorheriger Formalineinwirkung

auch noch manche andere Gewebsbestandteile in erster Linie die roten Blutkörperchen die rote Farbe zurück und können somit leicht zu erheblichen Täuschungen führen.

Das neuerdings von *Busse* angewendete Verfahren mit Hämatoxylin (Hämatein) vorgefärbte Schnitte mit wässeriger Bismarckbraunlösung nachzufärben und nach kurzer Entfärbung in Alkohol und Abspülen in destilliertem Wasser in Zuckerlösung einzubetten, liefert Bilder, die für das Studium der Form der Hefe, für die mannigfaltige Vielgestaltigkeit der Kapseln derselben ganz ausserordentlich geeignet sind. Leider bleiben auch hier vielfach kleinere Hefeformen ungefärbt, aber diejenigen, welche gefärbt sind, zeigen die Strukturverhältnisse in ganz ausgezeichnetem Masse. Die Kapseln speziell treten besondes dann deutlich und schön hervor, wenn zur Kernfärbung eine mit Essigsäure versetzte Hämateinlösung verwandt worden ist.

Die von *Cürtis* angegebene Färbeart habe ich verschiedentlichst angewandt, aber es ist mir nicht gelungen, auch nur annähernd so schöne Präparate damit zu bekommen, wie es die von *Curtis* an *Busse* eingesandten sind. In diesen zeigt sich die Methode *Curtis* ebenfalls als sehr leistungsfähig, sie stellt die Strukturverhältnisse der Hefen sehr schön dar und färbt die grössere Menge der im Gewebe vorhandenen Hefen. Auf welche Ursache es zurückzuführen ist, dass mir die Färbung nur mangelhaft gelungen ist, vermag ich nicht anzugeben, es scheint aber sehr wohl möglich, dass das von *Curtis* verwandte Methylviolett 6B chemisch doch etwas anders zusammengesetzt ist als das von *Grübler* bezogene Präparat, welches ich gebrauchte.

Leider sind auch die mit der *Sanfelice*'schen Methode angestellten Färbungen nicht zu so glänzenden Ergebnissen gediehen, wie solche nach den Mitteilungen der italienischen Schule unzweifelhaft zu erreichen sein mussten. Sowohl die Vermischung von Saffranin und Malachitgrün wie auch die

Doppelfärbung von Lithioncarmin und Gentianaviolett ergaben mir keine absolut sicheren Resultate. Ob auch hier eine Differenz der Reagentien vorliegt, oder ob irgend ein Faktor in der Angabe der Färbemethoden vielleicht unerwähnt geblieben ist, dessen Ausserachtlassung die Exaktheit und Zuverlässigkeit der Färbung beeinträchtigte, lasse ich dahingestellt.

Dagegen möchte ich noch erwähnen, dass ich auch Präparate untersucht habe, die in *Flemming*scher Lösung (Chrom-Osmium-Essigsäure) vermischt, fixiert wurden. Ich will nicht unterlassen, darauf hinzuweisen, dass die Struktur der Hefen auch hierbei prachtvoll hervortritt, und dass zwar eine Differenz der Hefen und Kerne bei Anwendung der nötigen Anilinfärbung nicht zu erreichen ist, dass aber trotzdem die Hefen mit grosser Deutlichkeit als solche hervortreten. Bei der Anwendung der *Weigert*schen Fibrinfärbungsmethode gelingt es, die Hefen blau zu erhalten, während schon die Kerne entfärbt sind, doch ist eine Nachfärbung oder auch eine Vorfärbung leider nicht recht anwendbar, weil ja die in Flemminglösung fixierten Gewebe nur Anilinstoffe aufnehmen und besonders für Carminlösungen unempfänglich sind. Ich möchte aber noch einmal besonders hervorheben, dass bei den mit Flemmingscher Lösung fixierten Schnitten durch einige Uebung leicht zu erreichen ist, dass nur die Hefen gefärbt, die Kapseln dagegen vollkommen hell erscheinen.

Am Schlusse möchte ich noch den *Busse*schen Standpunkt zum Ausdruck bringen und bestätigen, dass alle Färbungsverfahren keineswegs in der Weise exakt sind, dass sie nur Hefen färben, bei allen Methoden färben sich vielmehr auch hin und wieder Gewebsbestandteile, vor allen Dingen hyalin degenerierte und colloide Massen, und es würde zu grossen Irrtümern führen, wenn man den Beweis für die Anwesenheit von Hefen in irgend einem Gewebe dadurch für erbracht hält, dass sich bestimmte Teile im Gewebe mit einer der spezifischen Hefefärbungsmethoden tingieren. Mit Recht lehnt *Busse* daher

auch immer wieder die Beweiskraft solcher Arbeiten ab, die die Anwesenheit von Hefen im Gewebe darthun oder ableugnen wollen, und vertritt mit Energie den Standpunkt, dass einzig und allein die Kultur imstande ist, die Frage zu beantworten, ob bezüglich welche Körper im pathologisch veränderten Gewebe Hefen sind. Der Fortschritt in der Erkenntnis der Zelleinschlüsse ist lediglich durch die Kultur erreicht worden, und jeder verliert den Boden exakter Beobachtung und objektiver Beurteilung, der irgend einer Tinktionsmethode allein vertraut und die Anwendung von Kulturen ausser Acht lässt.

Am Schlusse der Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. *Busse* für die Ueberweisung des Themas, die liebenswürdige Bereitwilligkeit, mit der er mir sein Marial zur Verfügung stellte und mich bei meinen Experimenten und in der Abfassung dieser Arbeit unterstützte, meinen ehrerbietigsten Dank auszusprechen.

Lebenslauf.

Verfasser dieser Arbeit, Wilhelm Franck, evangelischer Religion, wurde geboren am 20. Februar 1877 zu Kl. Wachlin, Kreis Naugard in Pommern als Sohn des Gutsbesitzers Franck daselbst. Seine wissenschaftliche Vorbildung erhielt er im Wesentlichen auf dem Gymnasium respektive der Vorschule des Kgl. Gymnasiums zu Stargard in Pommern, das er Michaelis 1897 mit dem Zeugnis der Reife verliess. Er wandte sich sodann dem Studium der Medizin zu, studirte das erste Semester in München, dann drei in Greifswald, wo er am 20. Juli 1899 das Physikum bestand. Hierauf bezog er bis Michaelis 1900 die Universität Berlin. Dann kehrte er nach Greifswald zurück, bestand daselbst am 19. Juni 1902 das Staatsexamen und absolvierte am 18. Juli desselben Jahres das tentamen rigorosum.

Während seiner Studienzeit besuchte er die Vorlesungen, Kliniken und Kurse folgender Dozenten:

In München:

v. Beyer. Hertwig. Rückert.

In Berlin:

Klemperer. Koblanc. Lesser. Lewin. Lexer. Senator. Stranss.

In Greifswald:

Ballowitz. Beumer. Bier. Bonnet. Busse. Grawitz. Hoffmann. Jung. Krabler. Krehl. Landois. Limpricht. Löffler. Lüthje. A. Martin. Müller. Peiper. Richarz. Ritter. Rosemann. Schirmer. Schütt. H. Schulz. Solger. Strübing. Tilmann. A. Westphal.

Thesen.

I.

Bei Hasenscharten ist eine Operation, wenn angängig, möglichst frühzeitig vorzunehmen.

II.

Bei schweren typhösen Zuständen ist es gut, von Zeit zu Zeit Bäder zu geben oder kalte Einpackungen zu machen.

III.

Trachom ist von Follikularkatarrh, so verschieden auch der Endausgang beider Erkrankungen ist, häufig in den ersten Stadien nicht zu unterscheiden.